Versuche über Schutzimpfung auf chemischem Wege.

Von

L. C. Wooldridge.

Bei einer anderen Gelegenheit [1] habe ich die Vorstellung ausgeführt, dass Blutplasma als lebendes Protoplasma, Blut als ein verflüssigtes Gewebe zu betrachten sei. In dieser Allgemeinheit hingestellt scheinen die Sätze wenig zu beweisen; ich bin aber überzeugt, dass ihnen ein nicht unbedeutender heuristischer Werth innewohnt. Es kann nicht bezweifelt werden, dass von allen Substanzen und Säften des Körpers, das Blut noch am ehesten in der Zusammensetzung isolirbar ist, welche es innerhalb des lebenden Organismus besitzt. Es lässt sich in ausreichender Menge und in flüssigem Zustande gewinnen, also in einer Form, in welchen es chemischen Einwirkungen unmittelbar zugänglich ist. Die physiologische Chemie scheint mir von diesen Vortheilen bisher zu wenig Gebrauch gemacht zu haben.

Es ist bekannt, dass gewisse zymotische Erkrankungen sich vorzüglich im Blute abspielen, wobei es bald zu Vergiftungserscheinungen und localisirten Krankheitsprocessen kommt, bald zur Abwehr der Keime, verbunden mit einer längere Zeit dauernden Schutzwirkung gegen erneute Ansteckung. Nun bin ich bei meinen Untersuchungen über die Gerinnung des Blutes auf Erscheinungen gestossen, welche mit den genannten Vorgängen eine unleugbare Verwandtschaft zeigen und die Hoffnung erwecken, dem Chemismus der zymotischen Erkrankung näher zu treten. Dadurch wurde ich veranlasst, Flüssigkeiten, welche den Gewebssäften nahestehen, als Culturflüssigkeit zu benutzen und die Veränderungen zu verfolgen, welche sie durch das Wachsthum der Pilze erleiden. Die Erfahrungen, welche ich dabei gesammelt habe, scheinen mir in verschiedener Richtung von Interesse zu

[1] Blood plasma as protoplasma. *Arris and Gale lectures.* June 1886.

sein, so dass ich mich für berechtigt halte, schon jetzt eine kurze Mittheilung zu geben, obwohl meine Untersuchungen noch nicht abgeschlossen sind.

Ich bin meinem verehrten Lehrer Hrn. Prof. C. Ludwig in Leipzig zu Dank verpflichtet, dass er mir gestattet hat, einige der unten angeführten Versuche in seinem Laboratorium anzustellen.

1) Die Wirkung des Gewebsfibrinogen auf das Blut.

Jedes wässrige Extract frischer Gewebe (am besten Thymus oder Testis) kann als eine Lösung von Gewebsfibrinogen betrachtet werden. Zur Reinigung der Rohlösung fällt man mit etwas Säure, wäscht den Niederschlag und löst ihn in sehr verdünntem Alkali (Natronhydrat oder Soda). Die Infusion dieser gereinigten, schwach alkalischen Lösung in die Vene eines Kaninchens, bringt eine totale Thrombosirung des gesammten Gefässgebietes hervor. Beim Hunde dagegen treten Thrombosen nur an gewissen bevorzugten Orten auf, insbesondere im Gebiet der Vena portae, wie ich es vor kurzem in diesem Archiv (s. oben S. 174) beschrieben habe. Die Hunde erholen sich daher meistens von dem Eingriff. Lässt man einige Stunden später eine viel grössere Menge der Lösung neuerdings in die Vene einfliessen, so bekommt man so gut wie gar keine Wirkung. Durch die erste Einspritzung ist also nicht nur der genannte, constant eintretende, locale Gerinnungsvorgang eingeleitet worden, sondern es ist gleichzeitig das Blut in einen Zustand von Ungerinnbarkeit versetzt worden, welcher je nach der Menge der ersten Einspritzung verschieden lange, unter Umständen mehrere Tage anhalten kann. Thrombosirung und verminderte Gerinnbarkeit stehen quantitativ mit einander in Beziehung. Bei Infusion kleiner Mengen giebt es nur geringfügige Thrombosen und das entlassene Blut gerinnt träge. Nach Infusion grosser Mengen finden sich ausgebreitete Gerinnsel und das aus der Ader gelassene Blut gerinnt äusserst schwer.

Zur Erläuterung des Gesagten erlaube ich mir zwei Versuche anzuführen.

I. 40 ^{ccm} einer Lösung von ganz frisch dargestelltem Gewebsfibrinogen werden einem Hunde von $5^1/_2$ Kilo in die Jugularis gespritzt. Nach 1 bis 2 Minuten ein unbedeutender Krampfanfall und Aussetzen der Athmung. Nach Ablauf von 3 Minuten trat die Athmung wieder ein, hörte aber nach weiteren 5 Minuten neuerdings auf und kam nicht wieder. Das Thier wird sogleich secirt: Die Vena portae und alle in die Leber gehenden Zweige derselben waren vollständig thrombosirt; ebenso die meisten Mesenterialvenen, besonders stark die Milzvene. Die Lymphgefässe der Leber waren voll von Blut; unterhalb des Peritonealüberzuges der Gallenblase

fand sich Blut diffundirt. In der Leber zeigten sich haemorrhagische Infarcte, welche in dem sonst blassen Organ deutlich hervortraten. Im rechten Herzen war ein faseriges und geschrumpftes Gerinnsel (das Thier war in voller Verdauung. Vgl. *dies Archiv* 1888 S. 181). Sonst war von Gerinnseln nichts zu bemerken. Das Blut aus dem Herzen wurde gesammelt und da es spontan nicht gerann, centrifugirt. Das Plasma gerann bei weiterem Zusatz von Gewebsfibrinogen und ebenso bei Zusatz von Leukocyten aus Lymphdrüsen. Sich selbst überlassen gerann das Blut erst nach 24 Stunden.

II. Hund von 7 Kilo Gewicht, in Verdauung begriffen, erhält um 11^{h} 40 Vorm. 50^{ccm} derselben Lösung injicirt. Körpertemperatur vor der Injection 38^{0} C. Gleich nach der Injection Krampf, Stocken der Athmung, Puls in der Cruralis nicht fühlbar. Das Thier erholt sich rasch und wird losgebunden. Nach dem Erwachen aus der (Chloroform- und Aether-) Narkose dauert es lange, bis es wieder auf den Hinterbeinen gehen kann. Um 3^{h} 30 wird das Thier wieder narkotisirt (Körpertemperatur $40 \cdot 1^{0}$) und erhält 50^{ccm} einer ungefähr doppelt so starken Lösung eingespritzt. Es tritt ein kaum merkbarer Krampf ein, die Athmung geht ruhig fort. Nach 5 Minuten wird die Carotis geöffnet, das Blut strömt unter hohem Druck aus und es hat keine Schwierigkeit 280^{ccm} zu sammeln. (Dagegen sinkt wie ich schon früher angegeben habe, bei einer ersten Injection der Blutdruck bis fast auf Null.)

Das Thier wird durch Chloroform getödtet. Es findet sich in der Vena portae ein geschrumpfter, an den Rändern bereits weisslicher Thrombus von 2 bis 3^{cm} Länge. Nach oben setzt er sich in mehreren Aesten in die Leber hinein fort. Nach unten verlängert er sich in einen sehr dünnen, weisslichen, central liegenden Fibrinfaden, nicht dicker als gewöhnlicher Nähzwirn. Solche Fäden sind auch in den Mesenterialvenen zu finden, ebenfalls bereits deutlich entfärbt. Die Milzvene enthielt einen grossen, geschrumpften und zum Theil entfärbten Thrombus.

Nach sehr sorgfältiger Untersuchung fand ich zwei Mesenterialvenen, welche frische Gerinnsel enthalten. Das rechte Herz enthält eine kleine Menge faserigen völlig entfärbten Gerinnsels. Die Lungenarterie, linkes Herz, Vena cava, Armvene, Vena iliaca enthalten völlig flüssiges Blut. Die Leber zeigt ganz unbedeutende haemorrhagische Flecken. Die Nieren zeigen makroskopisch keine Abnormitäten. Der Harn ist mit Methaemoglobin gefärbt, welches, wie ich geneigt bin anzunehmen, von den entfärbten Gerinnseln herstammt. Die anderen Organe zeigen nichts Abnormes.

Das Blut wird centrifugirt. Das Plasma war in sehr geringem Grade fettig, so dass es in grossen Quantitäten etwas weisslich aussah. In dünnen Reagensgläsern war es ganz klar.

Das Plasma zeigte folgende Eigenschaften.

Mit Gewebsfibrinogen versetzt gerinnt es nicht in sechs Stunden (Zeit der Beobachtung). Mit Leukocyten aus Lymphdrüsen keine Gerinnung nach sechs Stunden (Zeit der Beobachtung). Mit einer sehr wirksamen Lösung von Fibrinferment keine Gerinnung in fünf Stunden. (Es werden zu 10 ccm Plasma 5 ccm der Fermentlösung gesetzt. 2 ccm derselben Lösung brachten 25 ccm verdünntes Bittersalzplasma in 15 Minuten zur Gerinnung.) Mit Lecithin tritt rasch eine Spur von Gerinnung ein, welche aber später nicht zunimmt. Mit Peptonplasma sehr langsam eintretende und unvollkommene Gerinnung.

Dass das Plasma von dem eingespritzten Gewebsfibrinogen nichts mehr enthält, geht aus folgender Reaction hervor. Die Lösung des Gewebsfibrinogen giebt nach starker (25 facher) Verdünnnng und nach dem Ansäuern mit Essigsäure ($^1/_2$ ccm Essigsäure von 35 Procent auf 2 ccm der Fibrinogenlösung) einen deutlichen und bleibenden Niederschlag. Plasma in derselben Weise behandelt bleibt vollkommen klar, ist auch nach drei Tagen noch flüssig.

Trotzdem enthält das Plasma noch viel Fibrinogen. Mit verdünnter Schwefelsäure (0·4 Procent) bis zu stark saurer Reaction versetzt, giebt es eine voluminöse Fällung. In einer anderen Portion des Plasma's wird das Fibrinogen in bekannter Weise mit Kochsalz ausgefällt, der Niederschlag mit gesättigter Kochsalzlösung bis zum Verschwinden der Eiweissreaction gewaschen, entsalzt, getrocknet und gewogen. Ich fand 0·93 Procent Fibrinogen.

Bedenkt man, dass der grösste Theil des Blutes flüssig geblieben ist und nur in der Portal- und Milzvene grössere Thromben gebildet worden sind, in deren Zusammensetzung das eingespritzte Gewebsfibrinogen wahrscheinlich zum grössten Theil eingegangen ist, so wird der Gehalt des Blutes an Fibrinogen nicht überraschen. Merkwürdig bleibt aber, dass die der ganzen Blutmenge zugeführte Lösung gleichwohl nur an gewissen Oertlichkeiten krankhafte Processe hervorruft und dass die erste Injection das Fibrinogen des Blutes so verändert, dass es sich gegen eine zweite Injection sowohl innerhalb des Thieres wie ausserhalb indifferent verhält.

2. Verwendung des gekochten Gewebsfibrinogens als Culturflüssigkeit. Versuche mit Anthrax.

Um die Veränderungen zu studiren, welche Lösungen des Gewebsfibrinogen durch pathogene Pilze erfahren, schien mir die Wahl einer rasch und sicher wirkenden aërobischen Pilzart von Wichtigkeit zu sein. Ich habe daher meine Versuche vorläufig auf den Bacillus anthracis beschränkt.

Die Aussaat der Pilze geschah stets erst nachdem die Fibrinogenlösung durch Kochen sterilisirt worden war. Die Flüssigkeit erleidet dabei Aenderungen ihrer chemischen Beschaffenheit sowohl, wie ihrer physiologischen Wirksamkeit, welche ich vorerst beschreiben will.

Die gekochte Lösung hat die Fähigkeit verloren, innerhalb des kreisenden Blutes Gerinnung zu erzeugen, dagegen bleibt ihre Wirksamkeit auf extravasculäres Plasma, z. B. Peptonplasma, bestehen.

Beim Kochen wird gewöhnlich eine grössere oder geringere Menge des Gewebsfibrinogens coagulirt. Das Coagulum kann nicht als gewöhnliches geronnenes Eiweiss aufgefasst werden; denn das durch Kochen coagulirte Fibrinogen besitzt in hohem Grade die Fähigkeit in Peptonplasma Gerinnung einzuleiten. In Bezug auf die Menge und Beschaffenheit des Coagulums verhalten sich verschiedene Lösungen durchaus nicht gleichartig.

Man kann drei Fälle unterscheiden.

Entweder coagulirt ein grosser Theil oder die Flüssigkeit wird opalescent, oder endlich sie wird nicht merklich verändert. Das verschiedene Verhalten hängt sicherlich, aber nicht ausschliesslich, von dem Gehalt der Lösung an Alkali ab. Durch einen gewissen Grad der Alkalescenz lassen sich immer Lösungen herstellen, welche durch Kochen nicht verändert werden. Wieviel Alkali aber dazu gehört, das lässt sich gegenwärtig gar nicht allgemein angeben, weil das Gewebsfibrinogen ein sehr veränderlicher Körper ist und weil die Extracte, welche aus verschiedenen Thymus (bez. Testes) gewonnen sind, nicht als gleichwerthig angesehen werden können.

Der Bequemlichkeit halber werde ich solche Lösungen, welche beim Kochen keine merkliche Veränderung erleiden, als stark alkalische Lösungen bezeichnen. Man muss verstehen, dass diese Bezeichnung nur relativ ist, d. h. dass bisweilen die Lösungen wirklich eine stark alkalische Reaction geben, bisweilen nur ganz schwache.

Das verschiedene Verhalten der gekochten Fibrinogenlösung kommt auch bei ihrem Gebrauch als Culturflüssigkeit zur Geltung. In den „stark alkalischen“ Lösungen wachsen die Anthraxbacillen sehr rasch und reichlich und sie zeigen sich, wenn man sie nach mehrtägiger Züchtung auf ein Thier überimpft, sehr giftig. Die Flüssigkeit selbst ist aber nicht giftig. Sie lässt sich sehr leicht mittels eines gewöhnlichen Papierfilters von den Pilzen trennen, welche eine gerinnselartige Masse von langen Fäden bilden. Das Filtrat kann ohne Schaden in die Vene eines Kaninchens injicirt werden. Das Thier ist durch die Injection auch nicht immun geworden. Es stirbt nach der üblichen Frist, wenn es mit Anthraxblut subcutan inoculirt wird.

Ganz anders verhalten sich „schwach alkalische“ Lösungen. In ihnen wachsen die Anthraxbacillen bisweilen gar nicht oder sie wachsen bis zu

einem gewissen Grade und verlieren ihre Giftigkeit, oder sie erschöpfen rasch das Proteïd der Flüssigkeit und sind immer noch sehr giftig.

Mit solchen „schwach alkalischen“ Culturen ist es mir nun schon wiederholt möglich gewesen, Kaninchen immun gegen Anthrax zu machen; die Pilze dürfen aber nicht mit in das Blut gespritzt werden. Man kann sie von der Flüssigkeit durch Filtriren trennen, wie das soeben beschrieben wurde. Das Verfahren ist indessen bei den spärlich gediehenen Culturen unsicher und man thut besser, die Pilze durch Kochen zu tödten. Dabei zeigt sich, dass die Flüssigkeit, welche, wie beschrieben, schon vor der Aussaat gekocht worden war und dabei die in der Hitze gerinnenden Stoffe abgeschieden hatte, nun wieder empfindlich geworden ist gegen das Kochen und mehr oder weniger Neigung zeigt zu gerinnen. Auf diese Veränderung wird sogleich weiter eingegangen werden.

Spritzt man die neuerdings pilzfreie Lösung in die Vene des Thieres, so wird es in der Regel immun gegen Anthrax, d. h. man kann es sogleich oder später mit giftigstem Anthraxblut ohne Schaden subcutan impfen. Ich habe eine grössere Zahl von Thieren auf diese Weise immun gemacht, so dass an der Richtigkeit der Beobachtung kein Zweifel bestehen kann. Die schützende Wirkung dauert sehr lange, bei einem Thiere konnte ich sie noch nach fünfzehn Monaten nachweisen.

Die beste Methode, die Protection zu erzielen, ist folgende: Man kocht den wässerigen Organauszug der Thymus, oder die sehr schwach alkalische Lösung des Essigsäureniederschlags, verdünnt mit Wasser und filtrirt durch Leinen. Hierauf wird Anthrax ausgesät und die Cultur zwei bis drei Tage im Brütkasten gelassen. Nun wird ohne vorheriges Filtriren gekocht, um die Bacillen zu tödten. Zeigt hierbei die Flüssigkeit Neigung, fest zu gerinnen, so muss Alkali zugesetzt werden. Nach dem Kochen wird abermals durch Leinen filtrirt. Damit ist die Flüssigkeit zur Schutzimpfung fertig.

Mit derartig zubereiteten Flüssigkeiten habe ich in einer Versuchsreihe von neun Kaninchen acht gegen Milzbrand geschützt. In dem neunten gerann bei dem Kochen der Cultur das Proteïd zum grössten Theil so fest, dass es sich nicht filtriren liess und deshalb eine fast eiweissfreie Flüssigkeit zur Infusion kam. Culturen, in welchen beim Kochen das Gewebsfibrinogen so vollständig gerinnt, dass sie klare Filtrate geben, aus welchen durch Essigsäure kein Proteïd mehr ausgefüllt werden kann, sind unbrauchbar. Durch die Infusion solcher Lösungen erfährt der Verlauf des Impfmilzbrandes keine Veränderung.

Ich berichte nachstehend über zwei Versuche, welche zu besonderen Zwecken angestellt wurden; sie mögen gleichzeitig zur genaueren Beschreibung des Verfahrens dienen.

1) 10. November 1887. Das wässrige, schwach alkalische Extract einer Thymus giebt beim Kochen ein ansehnliches Coagulum. Das Filtrat ist opalescirend und enthält reichlich mit Essigsäure leicht fällbares Proteïd. Die Flüssigkeit wird sterilisirt und mit Anthrax besät. Nach dreitägigem Stehen im Brütkasten haben sich die Pilzfäden als eine gerinnselartige Masse am Boden abgesetzt. Die überstehende Flüssigkeit wird abgehoben, filtrirt und gekocht. Mit dieser Lösung werden zwei Kaninchen geimpft.

Kaninchen I von 4 Pfund Gewicht erhält 30 ccm in die Jugularvene gespritzt. Es wird hierauf sogleich subcutan geimpft mit dem Herzblut eines an Anthrax gestorbenen Meerschweinchens.

Kaninchen II von $2^1/_2$ Pfund Gewicht erhält 25 ccm der Lösung in mehreren Portionen unter die Haut verschiedener Körperstellen injicirt. Endlich wird es mit demselben Blute wie Kaninchen I subcutan geimpft. Gleichzeitig wird ein Meerschweinchen mit dem Blute geimpft.

12. November. Das Meerschweinchen wird todt gefunden.

13. November. Kaninchen II wird todt gefunden.

16. November. Kaninchen I ist wohl. Es wird neuerdings ohne Schaden mit Milzbrand geimpft. Es lebt noch jetzt (6 Monate später).

Daraus muss geschlossen werden, dass die subcutane Injection der Fibrinogenlösung nicht schützt.

2) 28. April 1888. Das wässrige Extract einer Thymus giebt beim Kochen deutliche Fällung. Nach Zusatz von Wasser wird durch Leinen filtrirt. Das stark opalescirende Filtrat wird nach wiederholtem Kochen mit Anthrax besät. Nach zweitägigem Stehen im Brütkasten wird die Cultur, in welcher die Pilze reichlich gewachsen sind, ohne vorher zu kochen durch Papier filtrirt. Die Flüssigkeit geht zuerst trübe durch. Sehr bald werden aber die Poren des Filters verstopft und die Lösung geht klar hindurch. Es wird daher das Filter öfters gewechselt, damit das Filtrat nicht zu arm an Eiweiss werde. Die gesammelten Filtrate sind stark opalescirend und enthalten Anthraxbacillen.

A. Ohne vorheriges Kochen werden 40 ccm einem Kaninchen in die Jugularvene gespritzt. Gleichzeitig wird es im Ohr mit Milzbrandblut geimpft. Das Thier ist todt am 1. Mai. Das Ohr nicht oedematös, dagegen Oedem der Bauchhaut. Blut voll Bacillen.

B. 30 ccm der Lösung werden durch mehrere Minuten gekocht und durch Leinen filtrirt. Das Filtrat wird einem zweiten Kaninchen in die Vene gespritzt. Gleich hinterher wird das Thier mit Milzbrand geimpft. Ausser einer sehr kleinen Röthung an der Impfstelle ist kein Erfolg zu bemerken. Eine zweite Impfung bleibt ebenso wirkungslos. Es scheint dass die Flüssigkeit nur gegen subcutanen Milzbrand schützt.

3. Veränderungen des Gewebsfibrinogen durch Kochen. Schutzimpfung ohne Anthrax.

Die soeben mitgetheilten Beobachtungen scheinen mir einen Einblick in das Wesen der Schutzimpfung zu gewähren. Man ist gegenwärtig geneigt anzunehmen, dass die pathogenen Pilze gefährlich werden durch die Gifte, welche sie produciren, und es kann nicht bezweifelt werden, dass sie im Stande sind, in gewissen Culturflüssigkeiten alkaloïdartige Stoffe zu bilden. Ob sie dasselbe aber auch im thierischen Körper thun, kann wohl in Frage gestellt werden. Sie entfalten hier ihre Wirkung auf die Gewebe und man kennt keine künstliche Lösung, welche in Bezug auf ihre chemischen Eigenschaften den Geweben gleichgestellt werden könnte. Immerhin ist zu bedenken, dass sich fast aus allen Geweben Substanzen gewinnen lassen, welche dem Fibrinogen des Blutes ausserordentlich verwandt sind und mit ihm gerinnen, genau so wie das Blut gerinnt, wenn es nach Zerreissung oder Verletzung der Gefässwand in die Gewebe eindringt. Nachdem ich nun gefunden hatte, dass die Lösungen des Gewebsfibrinogens auch nach dem Kochen noch einen Theil ihrer physiologischen Eigenschaften zurückbehalten, so schien mir eine solche Flüssigkeit viel besser zum Vergleich geeignet, als die gebräuchlichen Peptonlösungen. Es hat sich nun gezeigt, dass eine Fibrinogenlösung selbst nach sehr reichlichem Wachsthum von Anthrax keine giftigen Eigenschaften entfaltet. Sie kann ohne Schaden in grosser Menge in's Blut gespritzt werden. Gewöhnlich tritt in Folge dessen Immunität auf und man könnte zu der Vorstellung neigen, dass die Pilze einen schützenden Stoff ausscheiden. Die Erscheinungen sprechen aber nicht für eine solche Annahme. Erstens ist die schützende Wirkung durchaus nicht proportional der Vermehrung der Pilze. Im Gegentheil sind diejenigen Culturen, in welchen die Pilze am üppigsten gedeihen, oft ganz wirkungslos. Zweitens hat sich die schützende Kraft davon abhängig gezeigt, dass in der Flüssigkeit eine gewisse Menge des Fibrinogens, wenn auch in verändertem Zustande, verbleibt.

Es hat somit den Anschein, als ob die Pilze ihre Wirkung dadurch entfalteten, dass sie das vorhandene Proteïd in einer gewissen Weise modificiren. Dass das Fibrinogen der Cultur durch die Pilze verändert wird, geht schon aus den oben gemachten Angaben hervor und soll hier durch einen besonderen Versuch gezeigt werden:

Eine zerkleinerte Thymus wird mit destillirtem Wasser angesetzt, nach 24 Stunden das Extract colirt und mit wenigen Tropfen Natronlauge versetzt, bis die Reaction mit neutralem Lakmuspapier eben alkalisch ist. Es wird gekocht, gleich nach dem Kochen die gleiche Menge destillirtes Wasser zugesetzt und durch Leinen filtrirt. Das Filtrat ist milchig opalescent. Nach Zugabe von noch zwei Tropfen Natronlauge wird die

Flüssigkeit in einer sterilisirten Flasche wiederholt gekocht. Die Reaction war eben alkalisch. Jetzt wird Anthrax ausgesät. Nach zweitägigem Stehen im Brütkasten lässt sich unter dem Mikroskope ein reichliches Wachsthum langer Anthraxfäden nachweisen. Die Reaction ist eben alkalisch. Nun wird wieder gekocht und es zeigt sich, dass dabei die ganze Menge des Proteïds zu einer festen Masse gerinnt. Durch Zusatz von wenig Alkali lässt sich dies nicht verhindern. Erst wenn die Lösung stark alkalisch gemacht wird, bleibt ein Theil des Fibrinogens aufgequollen.

Die Anthraxbacillen verändern also die Lösung des Gewebsfibrinogens der Art, dass sie gegen das Kochen wieder empfindlich wird, wahrscheinlich indem gewisse Mengen des Fibrinogens, welche früher der Gerinnung widerstanden haben, nun doch hineingerissen werden. Hierzu scheint es nur eines geringen Anstosses zu bedürfen, da ein spärlicher Wuchs von Pilzen oft genügend ist. Bei der ausserordentlich labilen Beschaffenheit dieser Proteïde schien mir daher die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dieselbe Modification auch ohne Anthrax zu erhalten. Ich habe schon oben erwähnt, dass Lösungen von Gewebsfibrinogen verschiedener Provenienz sich sehr ungleichartig verhalten. Von Wichtigkeit ist ferner das Verfahren, welches man einschlägt, um die gekochte und theilweise geronnene Lösung zu filtriren. Ich führe folgenden Versuch an: Man lässt fein gehackte frische Thymus unter gelegentlichem Umrühren 24 Stunden mit destillirtem Wasser stehen und centrifugirt dann ab. Wird die Lösung ohne weiteren Zusatz gekocht, so geht das Fibrinogen in die coagulirte Form über, theils in Gestalt eines flockigen, zusammengeschrumpften, gerinnselartigen Niederschlags, theils in Gestalt einer aufgequollenen Masse, welche die Flüssigkeit opalescent macht. Auf Zusatz von geringen Quantitäten Alkali wird der fester geronnene Theil vermindert und der aufgequollene vermehrt. Wenn man eine solche Lösung durch ein gutes Papierfilter laufen lässt, so ist das erste Filtrat trübe und enthält Fibrinogen; dasselbe fällt aus sobald man der Flüssigkeit eine deutlich saure Reaction ertheilt. Sehr bald verstopfen sich aber die Poren des Filters und die späteren Portionen des Filtrates sind wasserklar; sie enthalten geringfügige Spuren von Eiweiss, aber kein Fibrinogen mehr, denn beim Ansäuern tritt erst Fällung ein, wenn die kalte Flüssigkeit etwa mit der halben Menge 35 procentiger Essigsäure versetzt ist, und noch schwieriger ist die Ausfällung durch Säure in der Hitze.

Man sieht, dass je nach der Dichtigkeit des Filters, dem Grade der Aufquellung, der Menge und Art des festen Coagulums, das Filtrat einer gekochten Fibrinogenlösung sehr verschieden sein muss. Bei meinen ersten Versuchen über Schutzimpfung[1] habe ich viele dieser Umstände nicht ge-

[1] *Proceedings of the Royal Society.* 1887; — *Report of the Medical Officer to the Houses of Parliament.* 1887.

kannt, namentlich den grossen Einfluss des Filtrirens. Ich hatte gefunden, dass eine Fibrinogenlösung, in welcher Anthrax gewachsen ist, die Fähigkeit besitzt, Kaninchen immun gegen Impfmilzbrand zu machen, wenn sie in die Vene des Thieres injicirt wird. Da ich eine gleiche Schutzwirkung durch eine gekochte Fibrinogenlösung, welche nicht als Culturflüssigkeit gedient hatte, nicht beobachtet hatte, so war ich natürlich der Meinung, dass die Mitwirkung der Bacillen nöthig sei.

Nachdem ich aber gelernt hatte, dass die Schutzwirkungen an das Vorhandensein des leicht fällbaren Fibrinogens gebunden ist, und dass dasselbe in verschiedenen Modificationen vorkommen kann, so schien mir die Möglichkeit, die schützende Modification ohne Mitwirkung der Bacillen herzustellen, durchaus nicht ausgeschlossen. Es handelte sich offenbar darum, die Fibrinogenlösung mit möglichst geringem Zusatz von Alkali, d. h. in einem hitzeempfindlichen Zustand zu kochen, sie aber doch nicht so fest coaguliren zu lassen, dass ein fibrinogenfreies Filtrat entsteht. Die Vorschrift muss so unbestimmt gehalten sein, weil die wässrigen Extracte selbst schon nicht als einheitlich angesehen werden können. So lange es nicht gelingt, die wirksamen Proteïde zu isoliren, wird man eben in jedem Falle etwas anders verfahren müssen und man wird auch nicht erwarten können, dass die Resultate ganz sichere sein werden.

In den ersten Versuchen, welche ich angestellt habe, zeigte es sich, dass durch die Injection einer auf die angegebene Weise bereiteten Fibrinogenlösung, in welcher kein Anthrax gewachsen war, die Thiere zwar nicht immun geworden waren, aber dem Impfmilzbrand später erlagen als gewöhnlich. Die Incubationsdauer dehnt sich unter Umständen auf eine Woche aus, während sie sonst zwei bis drei Tage zu währen pflegt.

In zwei Fällen ist es mir aber nunmehr gelungen, Kaninchen gegen Impfmilzbrand vollständig immun zu machen durch Injection von gekochtem Gewebsfibrinogen, in welchem kein Anthrax ausgesät worden war. Das Fibrinogen ist in ziemlich stark coagulirtem Zustand injicirt worden, d. h. das durch Kochen erhaltene Coagulum wurde durch Leinwand gedrückt, so dass die colirte und zur Injection verwendete Flüssigkeit zahlreiche Theilchen des geronnenen Fibrinogens suspendirt enthielt.

Ich hoffe in der Lage zu sein, bald weitere Erfahrungen mitzutheilen und die Versuchsbedingungen schärfer angeben zu können. Bei der Wichtigkeit, die mir die Befunde für die Frage der Schutzimpfung zu haben scheinen, glaubte ich schon jetzt eine Darstellung meiner bisherigen Resultate geben zu sollen.

Guy's Hospital, Juni 1888.
